



## BACTÉRIAS E CÂNCER: AVANÇOS, PERSPECTIVAS E APLICAÇÕES.

Maria do Socorro Lacerda Rolim<sup>1</sup>, Yorran Hardman Araújo Montenegro<sup>2</sup>, Beatriz Susana Ovruski de Ceballos<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Graduanda em Ciências Biológicas, Universidade Estadual da Paraíba (UEPB). E-mail: socorrolacerda@gmail.com

<sup>2</sup>Graduando em Ciências Biológicas, Universidade Estadual da Paraíba (UEPB). E-mail: yorran\_montenegro@icloud.com

<sup>3</sup>Doutora em Ciências Biológicas (Microbiologia Ambiental) pela Universidade de São Paulo. Email: bia.ceballos@gmail.com

**Resumo:** Uma bactéria possui toda a informação essencial para vida em uma única molécula de ácido desoxirribonucleico de cadeia dupla e circular. Tais conhecimentos têm sido utilizados em grande escala pela engenharia genética, que com técnicas *in vitro* alteram o material genético em laboratório, podendo inserir esse material modificado no organismo original ou em algum outro. Hoje, sabe-se que a microbiota modula respostas ao tratamento do câncer e a suscetibilidade a efeitos secundários tóxicos. No presente trabalho foi realizada uma revisão bibliográfica de artigos científicos nas bases de dados SCIENCE DIRECT e NCBI, com combinações de palavras-chave abrangendo publicações do período entre 2015 a 2017. Como critério de escolha se optou por selecionar trabalhos que tratam do papel de bactérias na carcinogênese, uma vez que funções pró e anticarcinogênicas têm sido atribuídas aos microrganismos, e viu-se que ainda não existem pesquisas consolidadas acerca do potencial terapêutico, sendo necessário investimento nessa linha para a efetiva aplicabilidade dos mesmos.

**PALAVRAS-CHAVE:** Câncer; Terapia; Microbiota; Biotecnologia.

### 1. INTRODUÇÃO

A bactéria possui toda a informação essencial para vida em uma única molécula de ácido desoxirribonucleico de cadeia dupla e circular. Algumas bactérias possuem DNA extracromossômico circular

denominado DNA plasmídico, não essencial á sobrevivência da célula bacteriana, mas lhe confere vantagens seletivas/adaptativas, embora possam ser perdidos sob situações de estresse celular. O cromossoma bacteriano é grande (500 a 10.000 pares de bases) em relação ao



tamanho do microrganismo, com laços circulares que podem sobrepor-se e formar uma série de domínios topológicos independentes, permitindo a proteção do conteúdo genético e evitando a ruptura do mesmo (BETANCOR *et al.*, 2006). Tais conhecimentos têm sido utilizados em grande escala pela engenharia genética.

O termo *engenharia genética* refere-se à utilização de técnicas *in vitro* para alterar o material genético em laboratório, podendo inserir o material modificado no organismo original ou em algum outro. As técnicas envolvidas na utilização do material genético vão desde a fragmentação de segmentos específicos pela ação de enzimas de restrição que descartam o conteúdo que não for interessante, restringindo o fragmento do DNA selecionado para observação e manipulação, até mesmo modificações nestes, utilizando enzimas de restrição e modificação, clonagem, e agentes mutagênicos (MADIGAN *et al.* 2016).

A maior parte dos agentes mutagênicos exibe um espectro de mutações característico, que depende de vários fatores, incluindo a natureza das alterações primárias no DNA como: modificações de base, resíduos de açúcar ou fosfato, quebras de filamentos, ou incorporações de bases modificadas, e os subsequentes efeitos secundários, causados

pela resposta do organismo a estas modificações (DUSMAN *et al.*, 2012).

Chumduri *et al.* (2017) afirmam que as infecções bacterianas podem provocar danos ao DNA de células hospedeiras e certos agentes patogênicos induzem tais danos como parte de seu programa de infecção multifacetada através da recombinação do DNA bacteriano no DNA do hospedeiro, até mesmo gerando enzimas citotóxicas. Além disso, as vias de sinalização da célula hospedeira envolvidas na resposta de dano ao DNA (DDR) podem ser alteradas em resposta a uma infecção com o potencial de desencadear mutações e câncer.

O câncer surge pela aquisição de múltiplas alterações genéticas e epigenéticas nas células hospedeiras ao longo de muitos anos, promovendo traços oncogênicos e carcinogênese. Além disso, é importante notar que o ambiente onde os tumores evoluem fornece uma fonte única de sinais de sinalização que afeta o crescimento, a sobrevivência, o movimento e a metástase das células cancerígenas (TSILIMIGRAS *et al.*, 2017).

Nos últimos anos tornou-se evidente que a microbiota, e particularmente a microbiota do intestino, modula a resposta ao tratamento do câncer e a suscetibilidade a efeitos secundários tóxicos (ROY; TRINCHIERI, 2017).



Visando tais aspectos, esse trabalho tem como objetivo expor os resultados de uma revisão bibliográfica sistemática sobre os principais avanços no conhecimento à cerca da interação de bactérias e câncer, destacando as principais ferramentas descobertas para identificação e combate as células cancerígenas.

## 2. METODOLOGIA

A revisão bibliográfica sistemática é uma forma de pesquisa, que utiliza a literatura como forma de obter dados sobre um determinado tema, sendo útil para a integração de informações de um conjunto de estudos realizados separadamente, que podem apresentar resultados conflitantes ou coincidentes para auxílio de investigações futuras (SAMPAIO; MANCINI, 2007).

A pesquisa buscou responder à seguinte pergunta condutora: Quais os principais avanços quanto à edição genômica bacteriana e suas aplicações? As bases de dados utilizadas na revisão foram: SCIENCE DIRECT e NCBI, sendo esta escolha justificada pelo grande número de periódicos encontrados nas seguintes áreas: Biologia celular, molecular e nanotecnologia. Para a busca, foram utilizadas algumas combinações das palavras-chave: “*Bacterial engineering*”, “*Diagnosis of cancer*”, “*Bacteria and*

*cancer*”, “*Bacterial gene therapy*”. Nesse contexto, optou-se por selecionar trabalhos nos idiomas inglês e português, com delineamento experimental e resultados satisfatórios, publicados de 2015 até atualmente, garantindo assim um levantamento bibliográfico atualizado.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1. *Bactérias como modeladoras do câncer*

Segundo Trinchieri *et al.* (2017) o papel das bactérias na carcinogênese é complexo, uma vez que funções pró e anticarcinogênicas têm sido atribuídas a microrganismos.

A microbiota é composta principalmente de bactérias comensais, e outros microrganismos que vivem nas barreiras epiteliais do hospedeiro e no intestino, e estão também envolvidas na iniciação, progressão e disseminação de câncer tanto nas células epiteliais quanto em tecidos estéreis (ROY; TRINCHIERI, 2017). Embora a etiologia do câncer induzida por vírus tumorais, tais como o papiloma vírus humano, o vírus da hepatite B e o vírus da hepatite C, esteja bem documentada, apenas uma espécie bacteriana, *Helicobacter pylori*, é atualmente considerada pela OMS como um humancarcinogênio de classe I (GAGNAIRE *et al.*, 2017). Assim, o



câncer gástrico é considerado o quinto câncer mais comum e a terceira causa mais comum de morte associada ao câncer no mundo (MA *et al.*, 2015). A incidência é maior no Extremo Oriente, em países como a China, o Japão e a Coreia, e em países da América do Sul, como a Colômbia e Chile, que também são regiões onde a infecção por *Helicobacter pylori* é endêmica (OCONNOR; OMORAIN; FORD, 2017).

Em modelos de câncer colorretal é conhecida a interação entre *Escherichia coli*, em geral pertencentes ao subfilo B2, produtores da genotoxina colibactina. Raisch *et al.* (2014) identificaram a influência da *E. coli* pertencente ao filogruppo B2 nas atividades prototumorais dos macrófagos, uma vez que esses organismos associam-se as células de câncer de próstata e induzem a expressão de COX-2 (enzima ciclo-oxigenase-2 ou prostaglandin-endoperoxide synthase 2, codificada em humanos pelo gene *Ptgs2*) em macrófagos. A infecção nos próprios macrófagos pela *E. coli* e a produção de COX-2 não tem relação com a colibactina, no entanto, foi observada a influência dessas bactérias no desenvolvimento tumoral, uma vez que o tratamento contra a *E. coli* sessou a produção de COX-2. O COX-2 geralmente é um gene associado ao câncer colorretal, sugerindo que a expressão desse gene em bactérias

contribui para o avanço tumoral quando mutado.

Kramer *et al.*, (2015) observaram a influencia na expressão de PPAR $\gamma$  (Peroxisome Proliferator - Activated Receptor Gamma) na angiogênese tumoral em câncer de células epiteliais. Nepelska *et al.* (2017) estudaram a influência de bactérias comensais na atividade intestinal, onde a expressão gênica de PPAR $\gamma$  foi ligada à presença de butirato e propionato, dois dos principais metabólitos das bactérias intestinais fermentativas. Acredita-se que essa interação é devido à atividade de PPAR $\gamma$  como receptor nuclear chave dos linfonodos ligando o metabolismo e inflamação à microbiota.

A relação entre doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) e câncer é já reconhecida. Schmidt *et al.* (2017) observaram em modelos de camundongos induzidos a deficiência de citoquina epitelial interleucina-17C (IL-17C), responsável pelo recrutamento de neutrófilos em tecidos inflamados e duplamente deficientes em receptores Toll-like 2 e 4 (TRL-2/4). As citocinas são as moléculas que de forma direta exercem a função de comunicação entre a célula e o sistema imunológico. Os receptores de TRL são responsáveis pela recepção desses sinais e a sinalização, maturação e desenvolvimento da célula sinalizada.



Esses são responsáveis pela adaptação do sistema imune a um modelo de câncer de pulmão metastático. Nesses modelos, observou-se que a administração de *Haemophilus influenzae* (NTHi), organismos frequentemente encontrados em pacientes com DPOC, de IL-17 é dependente de TLR-2/4. Ou seja, IL-17C aumentou a expressão de NTHi e o fator de necrose tumoral- $\alpha$  das quiocinas dos neutrófilos, promovendo a inflamação neutrófila do microambiente tumoral, ligando-se patologicamente à microbiota e auxiliando no crescimento tumoral.

Chan *et al.* (2016) identificaram diferenças significativas quanto à microbiota em mulheres com câncer de mama e mulheres controle, através da aspiração do líquido presente na glândula mamária e canais. No grupo com câncer de mama, observou-se no material coletado a prevalência de bactérias do gênero *Alistipes*, formado por bactérias gram-negativas anaeróbias estritas, produtoras de pigmentos, enquanto as mulheres do grupo controle tiveram prevalência do gênero *Sphingomonadacea* que inclui treze espécies de bacilos gram-negativos aeróbios, não fermentadores, sendo a *Sphingomonas paucimobilis* a única espécie descrita em infecções humanas. Identificou-se nas mulheres com câncer de mama a atividade enzimática da  $\beta$ -glucuronidase, observando-se relação entre

a enzima e o desenvolvimento desse câncer e a enzima produzida pelo *Sphingomonadacea*. A microbiota encontrada em mulheres sem câncer é a tipicamente encontrada em pessoas saudáveis, pois estas bactérias pertencem aos canais mamários naturais das mulheres.

A interação desses organismos com o câncer é um importante elo entre ambos. O entendimento dessa interação poderá desenvolver ferramentas para a implantação de políticas adequadas na administração dos mesmos em meios de diagnóstico e terapêutico efetivamente.

### 3.2. Diagnóstico

Avanços rápidos no sequenciamento do DNA, metabolômica, proteômica e ferramentas computacionais estão aumentando dramaticamente o acesso ao microbioma e a identificação de suas ligações com as doenças (Gilbert *et al.*, 2016).

Sangeeta Bhatia e colegas de um grupo de engenharia biomédica do Massachusetts, Institute of Technology (MIT) em Cambridge, utilizaram uma estirpe inofensiva de *Escherichia coli* Nissle (1917), que é comumente adicionada ao iogurte e a outros alimentos como um probiótico para promover a saúde digestiva. Primeiro, os pesquisadores



alimentaram camundongos com essas bactérias e confirmaram que os microrganismos atravessaram o intestino e colonizaram tumores no fígado. Os pesquisadores criaram as bactérias para produzir uma enzima natural (LacZ) quando estivessem em presença de células tumorais de fígado. Em seguida, os pesquisadores injetaram camundongos com compostos precursores de emissores de luz. Trata-se de moléculas constituídas por um açúcar ligado à luciferina, uma fotoproteína presente em animais que apresentam fluorescência, como vagalúmens, alguns fungos e algas. Quando ligados, o par não emite luz, mas LacZ age como tesoura que corta e separa o açúcar da luciferina e separados ocorre a emissão de luz. Assim, em ratinhos que tinham cancro do fígado habitado por *E.coli*, o LacZ produzido pelas bactérias liberou o composto luminescente, que foi então excretado na urina dos animais, alterando a cor dessas amostras de amarelo para vermelho e portanto, indicando a presença de células hepáticas cancerígenas (SERVICE, 2015).

Alberto Martin, imunologista da Universidade de Toronto, Canadá, que estudou as interações microbianas com uma via bioquímica envolvida em uma forma hereditária de câncer colorretal diz que há cada vez mais evidências de um papel importante das bactérias no câncer

de cólon; além disso, algumas bactérias da flora intestinal têm mostrado capacidade de ligação e/ou inativação carcinogênica (DEWEERDT, 2015).

### 3.3. *Terapia bacteriana contra o câncer*

O desenvolvimento de pesquisas sobre o uso de microrganismos contra tumores é abrangente, especialmente pelos novos rumos de descobertas dessas ferramentas microbiológicas. Entretanto, encontra-se escassa bibliografia constatando os principais avanços nesta área.

Camacho et al. (2016) observaram as propriedades como agente antitumoral de uma estirpe de *Salmonella* e destacaram sua capacidade de proliferação dentro de tumores. As pesquisas foram realizadas com exemplares celulares potenciais encontrados comumente em exemplares de câncer. Os autores desenvolveram um sistema de autólise induzível baseado na capacidade de lise do fago lambda que, em resposta ao antibiótico anidrotetraciclina, lisa *Salmonella* liberando seu conteúdo plasmático que contribui com a produção em cadeia de salicilato e observam que se pode concluir na associação entre o desenvolvimento desse efeito pós-liberação do conteúdo citoplasmático da *Salmonella*.

A cadeia de salicilato promoveu



boa eficiência na morte de células tumorais, resultando em expectativas promissoras do potencial terapêutico do mesmo e do uso dessa linhagem bacteriana na terapêutica de câncer, destacando-se que salmonela é um agente enteropatogênico causador de diarreias, em geral autolimitadas.

Subramaniam *et al.* (2016) observaram a ação da bactéria *Mycobacterium indicus* na regressão tumoral e recuperação completa de câncer de pulmão e de bexiga em ratos. A ação desses microrganismos ocorreu principalmente após sua morte, liberando o conteúdo intracelular, em especial uma substância citotóxica que promoveu a apoptose em tipos celulares do câncer pela ação da ADP-ribose polimerase e fragmentação do DNA. O efeito citotóxico não atingiu células normais.

Bhave *et al.* (2015) observaram os efeitos citotóxicos do conteúdo plasmático da *Clostridium sporogenes* em linhagens de célula de câncer colorretal em plataformas bidimensionais (em exemplares *in vitro* como placas de petri) e tridimensionais (em ratos) e observaram o extermínio de 26,2% das células de câncer colorretal do modelo tridimensional nas primeiras 72 horas de aplicação.

O Zymosan-A, complexo proteínas-carboidratos sintetizado por *Saccharomyces cerevisiae*, age sobre

bactérias gram-positivas e gram-negativas promovendo suas lises. Mostrou ser eficiente na liberação de compostos citotóxicos dessas bactérias após causar sua lise e verificou-se que essas substâncias microbianas possuíam efeito citotóxico sobre linhagens de células tumorais. O modo de ação seria devido ao estímulo em receptores Toll e fagocíticos conduzindo a uma forte sinergia e, em consequência, na eliminação temporária ou permanente de alguns exemplares de células tumorais (Waldmannová *et al.*, 2016).

A atividade das histonas desacetilases tem forte relação com a expressão e mau prognóstico no câncer de próstata, sendo que esse conhecimento pode representar uma porta de entrada para o desenvolvimento de uma terapia eficaz contra a atividade dessas proteínas.

Sun *et al.* (2017), observando tais aspectos, utilizaram o cromopeptídeo-A, um peptídeo com atividade reguladora da expressão das histonas no DNA bacteriano, encontrado na bactéria *Chromobacterium sp.* para o tratamento em linfoma de células-T. Os efeitos mostraram a inibição seletiva do cromopeptídeo-A das histonas desacetilases. As histonas desacetilases geralmente são má expressas no câncer de próstata, promovendo o crescimento tumoral desordenado. Em camundongos,



depois da fase de testes *in vitro*, foi observada a ação do cromopeptídeo-A em atividade supressora no crescimento tumoral, revelando-se como potencial mutagênico para o desenvolvimento anormal de células tumorais.

#### 4. CONCLUSÃO

As informações obtidas no presente estudo permitiram visualizar de forma geral o estado atual das pesquisas sobre atividades bacterianas relacionadas com o câncer. Tendo em mente o papel da microbiota nos principais sistemas humanos e sua influência na saúde dos indivíduos, encontraram-se pesquisas com evidências de sua atividade quanto ao diagnóstico tumoral e ao tratamento. Entretanto, não se verificaram pesquisas conclusivas onde o potencial terapêutico, já reconhecido, tenha sido consolidado, o que sugere a necessidade de investimentos no desenvolvimento das mesmas que visem à aplicabilidade desses microrganismos em procedimentos contra o câncer.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BHAVE, Madhura Satish et al. Effect of Heat-Inactivated Clostridium sporogenes and Its Conditioned Media on 3-Dimensional Colorectal Cancer Cell Models. **Scientific Reports**, [s.l.], v. 5, n. 1, p.15681-15681, 28 out. 2015. Springer

Nature.

<http://dx.doi.org/10.1038/srep15681>.

CAMACHO, Eva María et al. Engineering Salmonella as intracellular factory for effective killing of tumour cells. **Scientific Reports**, [s.l.], v. 6, n. 1, p.1-1, 28 jul. 2016. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/srep30591>.

CHAN, Alfred A. et al. Characterization of the microbiome of nipple aspirate fluid of breast cancer survivors. **Scientific Reports**, [s.l.], v. 6, n. 1, p.1-1, 21 jun. 2016. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/srep28061>.

DEWEERDT, Sarah. Microbiome: Microbial mystery. *Nature*, [s.l.], v. 521, n. 7551, p. 10-11, 13 maio 2015

DUNGUYEN, van et al. Active tumor-therapeutic liposomal bacteriobot combining a drug (paclitaxel)-encapsulated liposome with targeting bacteria (Salmonella Typhimurium). **Sensors And Actuators B: Chemical**, [s.l.], v. 224, n. 1, p.217-224, mar. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.snb.2015.09.034>.

DUSMAN, Elisângela et al. PRINCIPAIS AGENTES MUTAGÊNICOS E CARCINOGENOS DE EXPOSIÇÃO HU



MANA. Health and Biology, Paraná.

GAGNAIRE, Aurélie et al. Collateral damage: insights into bacterial mechanisms that predispose host cells to cancer. **Nature Reviews Microbiology**, [s.l.], v. 15, n. 2, p.109-128, 3 jan. 2017.

GILBERT, Jack A. et al. Microbiome-wide association studies link dynamic microbial consortia to disease. **Nature**, [s.l.], v. 535, n. 1, p.94-103, jul. 2016.

JUNGNICKEL, C et al. IL-17C mediates the recruitment of tumor-associated neutrophils and lung tumor growth. **Oncogene**, [s.l.], v. 1, n. 1, p.1-1, 27 mar. 2017. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/onc.2017.28>.

KRAMER, K; WU, J; CROWE, D L. Tumor suppressor control of the cancer stem cell niche. **Oncogene**, [s.l.], v. 35, n. 32, p.4165-4178, 21 dez. 2015. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/onc.2015.475>.

LEHOURITIS, Panos et al. Activation of multiple chemotherapeutic prodrugs by the natural enzymolome of tumour-localised probiotic bacteria. **Journal Of Controlled Release**, [s.l.], v. 222, p.9-17, jan. 2016. Elsevier BV.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jconrel.2015.11.030>.

MADIGAN, Michael T. et al. **Microbiology of Brock**. 14. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016. 987 p.

MALFERTHEINER, Peter et al. Helicobacter pylori Eradication Has the Potential to Prevent Gastric Cancer: A State-of-the-Art Critique. **The American Journal Of Gastroenterology**, [s.l.], v. 100, n. 9, p.2100-2115, set. 2005. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1572-0241.2005.41688.x>.

NEPELSKA, Malgorzata et al. Commensal gut bacteria modulate phosphorylation-dependent PPAR $\gamma$  transcriptional activity in human intestinal epithelial cells. **Scientific Reports**, [s.l.], v. 7, n. 1, p.43199-43199, 7 mar. 2017. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/srep43199>.

RAISCH, Jennifer et al. Intracellular colon cancer-associated Escherichia coli promote protumoral activities of human macrophages by inducing sustained COX-2 expression. **Laboratory Investigation**, [s.l.], v. 95, n. 3, p.296-307, 29 dez. 2014. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/labinvest.2014.16>



1.

ROY, Soumen; TRINCHIERI, Giorgio. Microbiota: a key orchestrator of cancer therapy. **Nature Reviews Cancer**, [s.l.], p.109-128, 17 mar. 2017.

SERVICE, Robert. Engineered bacteria detect cancer and diabetes in urine. **Science**, [s.l.], p.1-1, 28 maio 2015.

SUBRAMANIAM, Menaga et al. Cytotoxic and apoptotic effects of heat killed *Mycobacterium indicus pranii* (MIP) on various human cancer cell lines. **Scientific Reports**, [s.l.], v. 6, n. 1, p.1-1, 28 jan. 2016. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/srep19833>.

SUN, Jing-ya et al. Marine-derived chromopeptide A, a novel class I HDAC inhibitor, suppresses human prostate cancer cell proliferation and migration. **Acta Pharmacologica Sinica**, [s.l.], v. 38, n. 4, p.551-560, 23 jan. 2017. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/aps.2016.139>.

TSILIMIGRAS, Matthew C. B.; FODOR, Anthony; JOBIN, Christian. Carcinogenesis and therapeutics: the microbiota perspective. **Nature Microbiology**, [s.l.], v. 2, n. 3, p.17008-17017, 22 fev. 2017.

WALDMANNOVÁ, Eva et al. The use of Zymosan A and bacteria anchored to tumor cells for effective cancer immunotherapy: B16-F10 murine melanoma model. **International Immunopharmacology**, [s.l.], v. 39, n. 1, p.295-306, out. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.intimp.2016.08.004>.